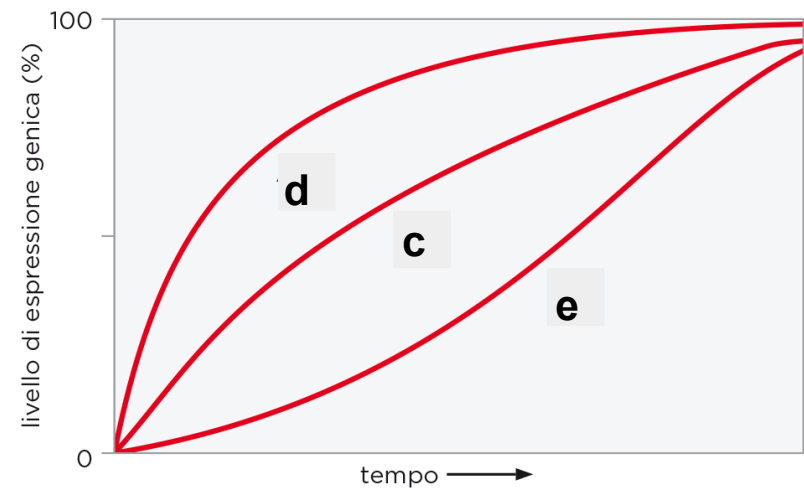
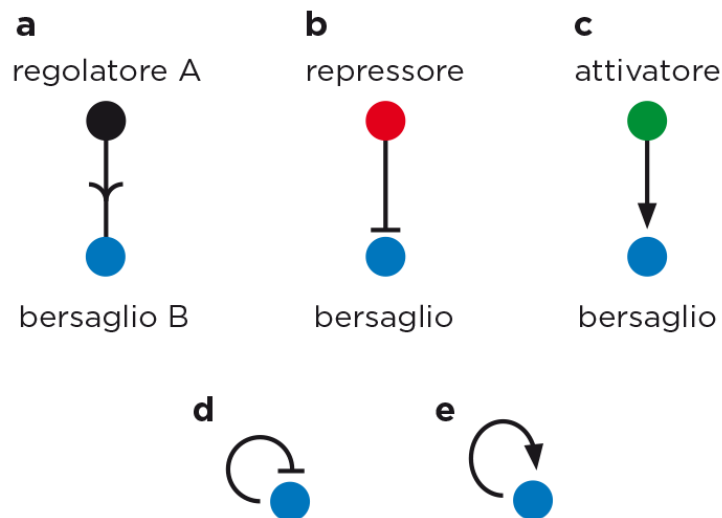


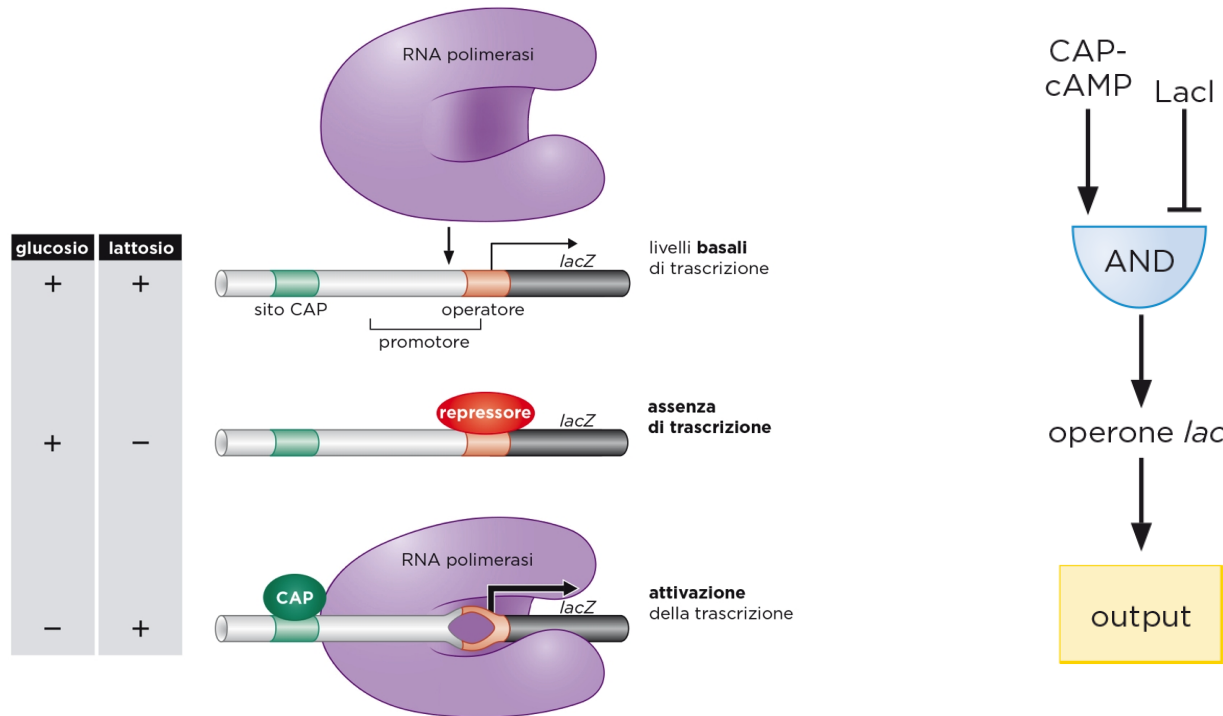
RETI di regolazione sono formate da nodi e segmenti: interruttori semplici e autoregolati



Cinetiche di risosta ad un induttore

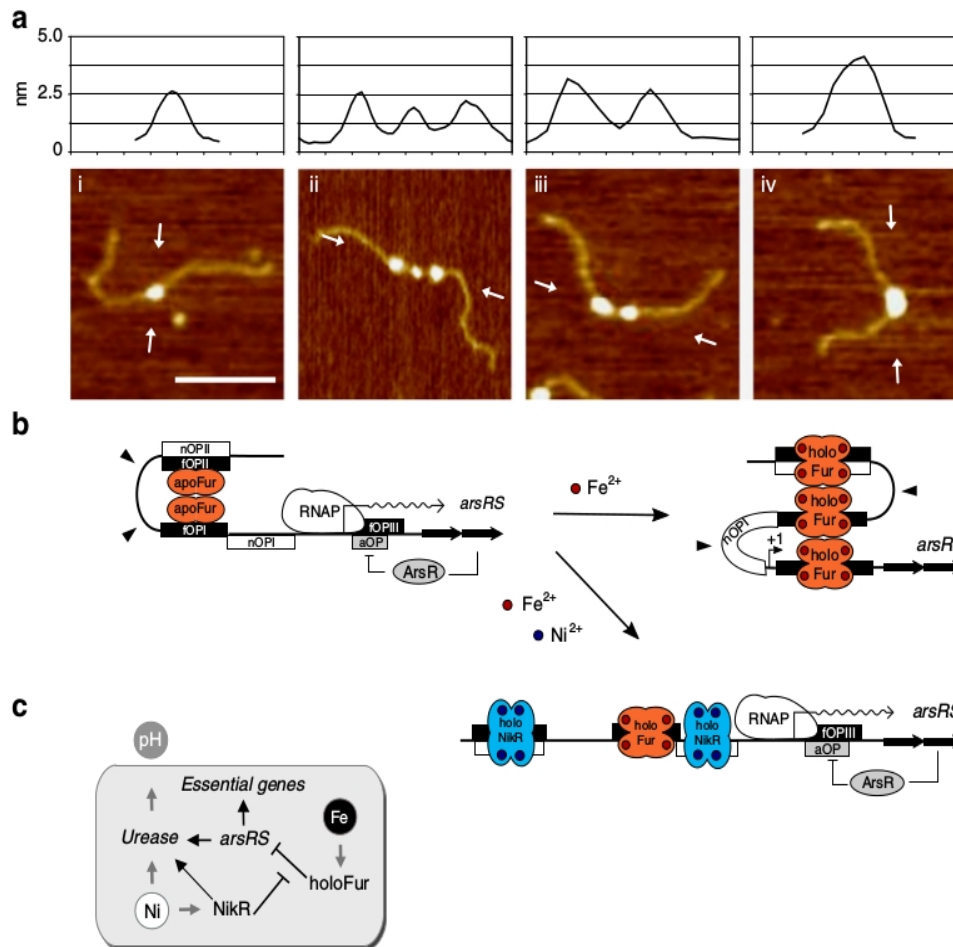
l'autoregolazione negativa (**d**) smorza il rumore di fondo e permette un tempo di ripsosta più rapido (*quando è associata a promotori forti*)

## Interruttori complessi mediano l'integrazione di segnali (AND, OR logic)



l'operone *lac* è regolato con logica della porta AND: la sua induzione richiede la presenza di CAP-cAMP e (AND) l'assenza di LacI

## Interruttori complessi mediano l'integrazione di segnali (AND, OR logic)



- il regolatore essenziale ArsR di *Helicobacter pylori* attiva il nickel-enzima ureasi (resistenza all'acido) e altri geni essenziali alla proliferazione.

- non ha senso proliferare se non c'è nickel per attivare l'ureasi.  
ma il sistema dell'importo dei metalli potrebbe favorire anche l'accumulo di ferro, tossico per induzione di stress ossidativo

**Soluzione: integrazione di segnale mediante condensazione del promotore di ArsR (comunque autoregolato)**

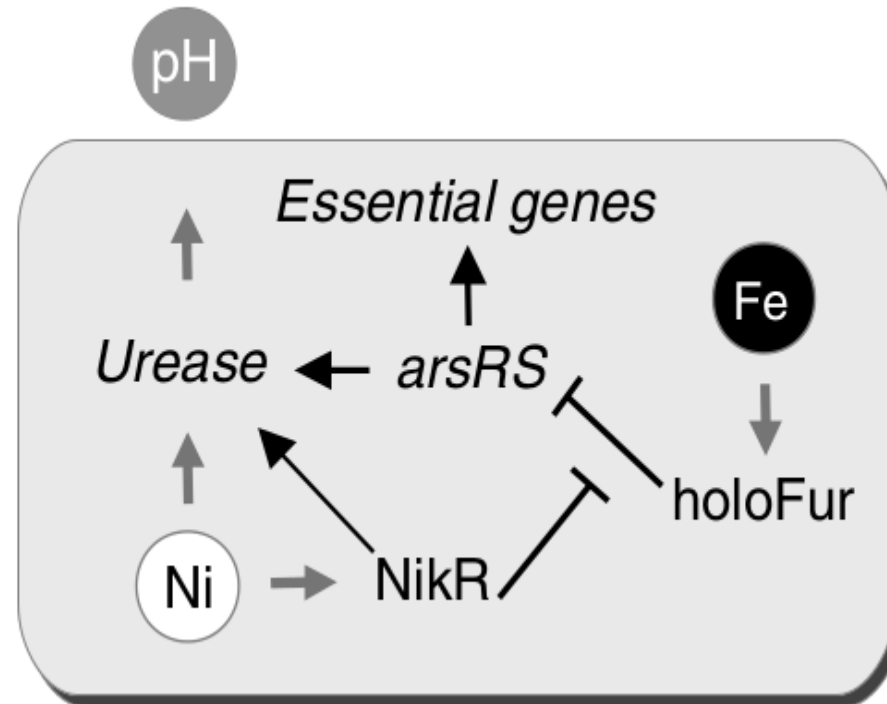
- ArsR promoter DNA *pseudo-knotting* cooperatively induced by holo-Fur binding and multimerization

- apo-Fur binding competes for *pivot* Fur operator, possibly favoring also RNAP recruitment/activity

- DNA decondensation and promoter antirepression induced by holo-NikR

## How *H. pylori* solves Ferrer's dilemma

SIGNAL INTEGRATION logic:

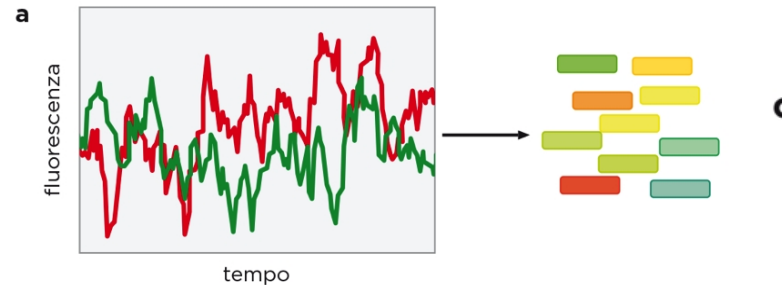


DON'T GROW, if intracellular  $\text{Ni}^{2+}$  is low OR if  $\text{Fe}^{2+}$  is high  
=  
PROLIFERATE only if  $\text{Ni}^{2+}$  AND  $\text{Fe}^{2+}$  concentrations are OK

## Rumore di fondo nell'espressione genica: rumore intrinseco ed estrinseco

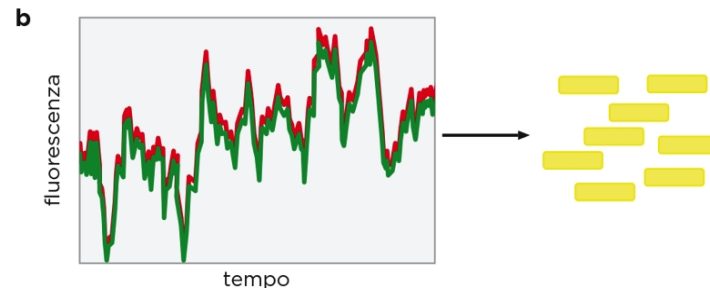
### Rumore intrinseco:

eventi stocastici nell'apparato deputato all'espressione genica: diversi valori di espressione di singoli geni all'interno della stessa cellula

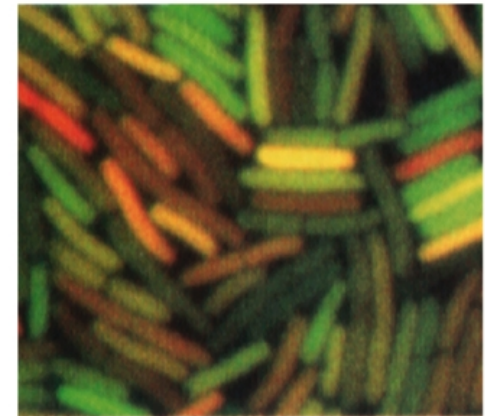


### Rumore estrinseco:

diversità di espressione genica tra cellule della stessa popolazione o cambiamenti dell'espressione genica nella medesima cellula col passare del tempo



c



*"These results establish a quantitative foundation for modeling noise in genetic networks and reveal how low intracellular copy numbers of molecules can fundamentally limit the precision of gene regulation."*

## Rumore di fondo nell'espressione genica: controllarlo e avvalersene 1

### Steady state (stato costante)

situazione nella quale i livelli del prodotto genico non variano nel tempo, o non sono perturbati da un segnale.

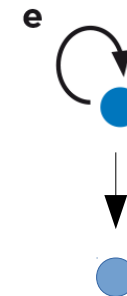


**L'autoregolazione negativa conferisce robustezza**  
permette cioè di compensare le variazioni dei livelli del gene auto regolato

**Nell'autoregolazione positiva il tempo necessario per raggiungere la metà del livello massimo è maggiore rispetto a sistemi di regolazione alternativi:**

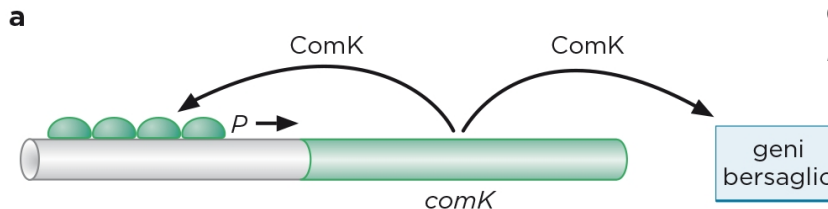
la velocità di sintesi, che aumenta col passare del tempo, dipende innanzitutto dall'accumulo dell'attivatore.

Questo è utile nei processi biologici che avvengono lentamente, come lo sviluppo, che possono trarre vantaggio dal lento accumulo di proteine (e regolatori) coinvolti nella morfogenesi



L'autoregolazione positiva è alla base degli interruttori bistabili

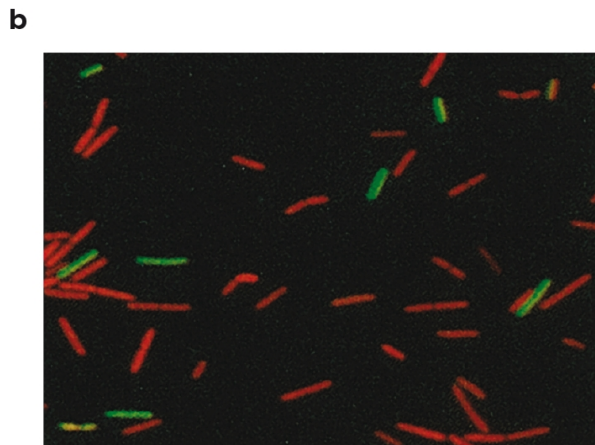
## Rumore di fondo nell'espressione genica: controllarlo e avvalersene 2 CIRCUITI BISTABILI



esempio di ComK, **regolatore della competenza di *Bacillus subtilis***

a) ComK autoregolato stimola la propria trascrizione e di altri geni bersaglio.

Il **legame cooperativo** di ComK al proprio promotore porta a una **risposta NON lineare, ipersensibile ai piccoli cambiamenti stocastici** dei livelli di ComK



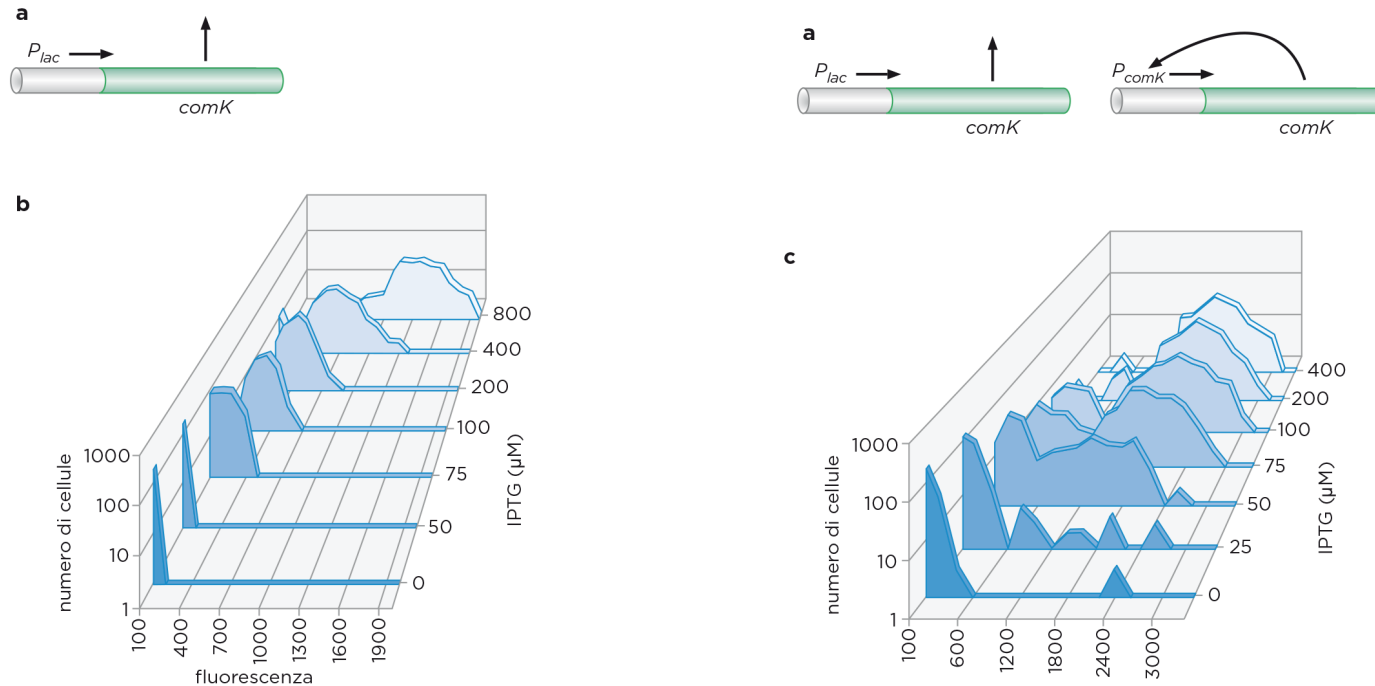
b) risultato: solo una parte delle cellule è in stato ON (reporter GFP sotto al controllo di ComK) mentre l'altra parte è in stato OFF

Una volta che le cellule entrano in stato ON, permangono in tale stato

Il rumore dell'espressione genica di *comK* fa sì che tra cellule identiche vi siano piccole variazioni nei livelli della proteina e che il livello soglia venga raggiunto solo in alcune cellule.

La **stocasticità** può essere sfruttata per fare assumere **stati cellulari alternativi** tramite l'impiego di **interruttori bistabili**

## BISTABILITÀ e ISTERESI



Per essere bistabile un interruttore deve avere proprietà di **isteresi**, avere cioè caratteristica di reagire in ritardo alle sollecitazioni applicate e in dipendenza dello stato precedente.

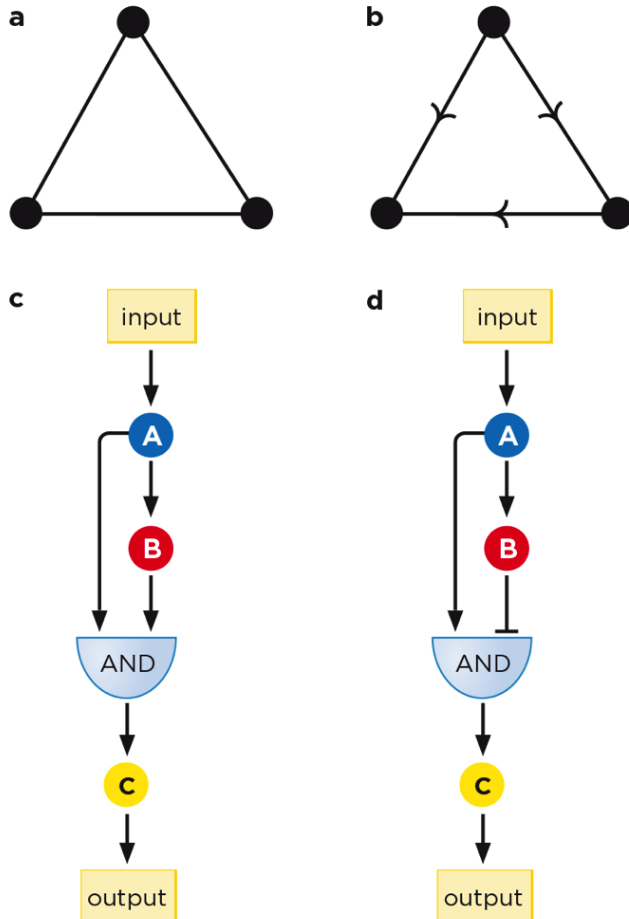
**L'isteresi** è un fenomeno per cui il valore assunto da una grandezza dipendente da altre è determinato, oltre che dai valori istantanei di queste ultime, anche dai valori che avevano assunto in precedenza.

L'isteresi dell'interruttore bistabile costituisce una sorta di memoria che fa sì che l'interruttore acceso non torni subito a spegnersi una volta che il segnale di attivazione viene rimosso. In assenza di isteresi un circuito che dirige il cambiamento tra due stati cellulari alternativi è sempre bimodale, ma viene detto eccitabile (il cambiamento è transitorio)



## Rumore di fondo nell'espressione genica: controllarlo e avvalersene 3

### CIRCUITI A RETROAZIONE POSITIVA feedforward loop motif



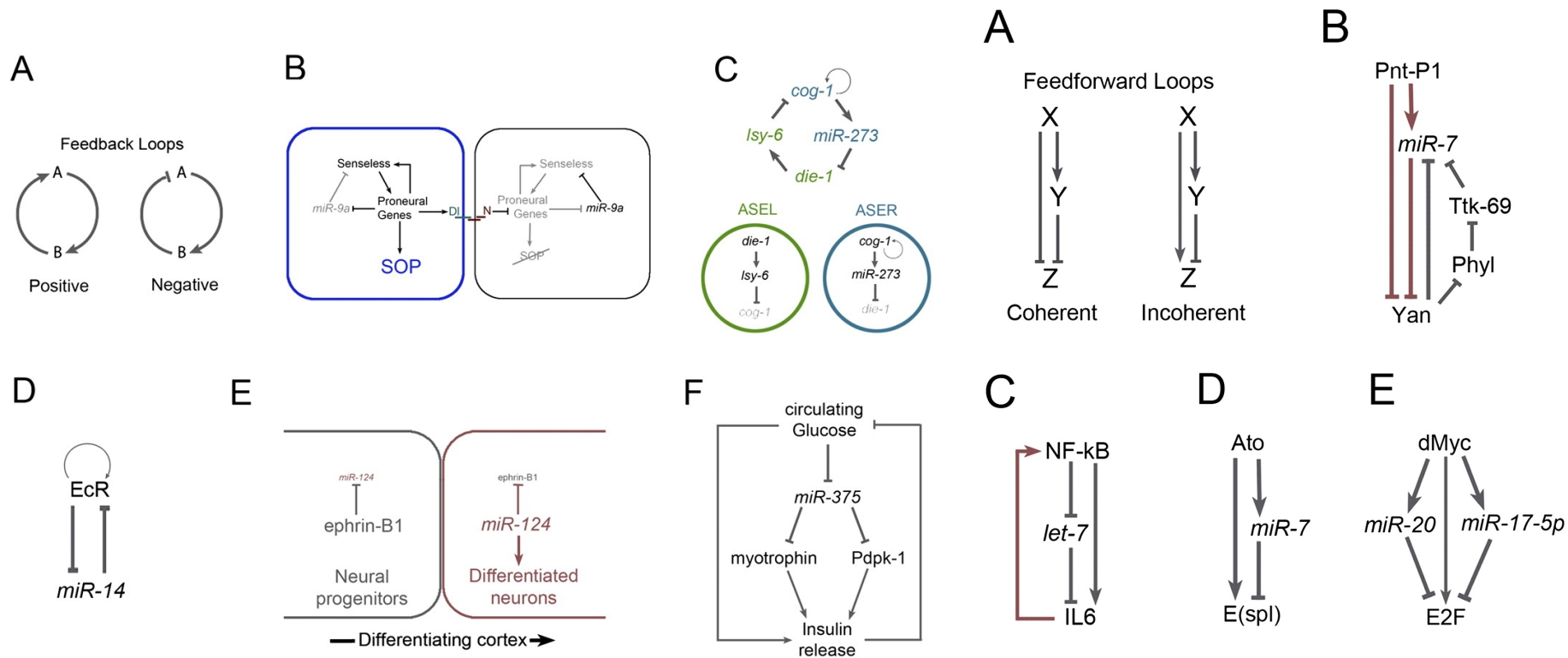
esempio di feedforward loop più conservati  
coerenti (c) AND logic  
e incoerenti (d) AND NOT logic

c) un circuito a retroazione positiva coerente richiede un input consistente perché si verifichi la trascrizione del gene bersaglio.

La caratteristica deriva dalla necessità di accumulare una sufficiente quantità di regolatore B per attivare C. Grazie a questo 'ritardo' il circuito è **robusto**, aiuta cioè la cellula a rispondere a un segnale reale sostenuto nel tempo e a **filtrare fluttuazioni stocastiche dell'intensità del segnale**.

d) un circuito a retroazione positiva incoerente rappresenta invece un generatore di impulsi. L'attivatore A induce il bersaglio C, ma col passare del tempo anche il repressore B che accumulandosi porta a uno spegnimento di C.

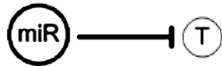
## miRNA sono stati associati a innumerevoli circuiti regolativi



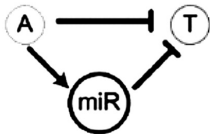
loop di regolazione (*motifs*) che coinvolgono miRNA

## Expression-tuning motifs

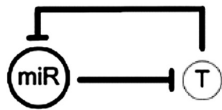
## A Simple repression



## B Coherent feed forward loop



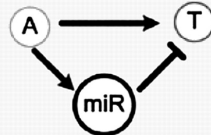
## C Double negative feedback loop



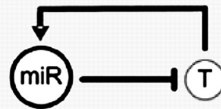
bistable!

## Expression-buffering motifs

## D Incoherent feed forward loop



## E Negative feed back loop



## F Incoherent feed forward loop

